植 物 分 类 学 报 36(4):298~304(1998)
Acta Phytotaxonomica Sinica

刺五加胚和胚乳发育的研究*

[1]刘林德 [1]王仲礼 [2]田国伟 [1]申家恒
[1](山东烟台师范学院生物系 烟台 264025) [2](北京大学生命科学学院 北京 100871)

THE DEVELOPMENT OF EMBRYO AND ENDOSPERM IN *ELEUTHEROCOCCUS SENTICOSUS* (ARALIACEAE)

[1]LIU Lin-De [1]WANG Zhong-Li [2]TIAN Guo-Wei [1]SHEN Jia-Heng**
[1](*Department of Biology*, *Yantai Normal University*, Yantai, Shandong 264025)
[2](*College of Life Sciences*, *Peking University*, Beijing 100871)

Abstract The embryo development of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. was of the Solanad type. The fertilized egg usually underwent a rest period of 15 days before embarking on its first division. And the first division of the zygote took place after the cellularization of endosperm free nuclei. After the club-shaped and the globular embryo period, the heart-shaped embryo developed when the fruit became ripe. From the late club-shaped to early heart-shaped embryo stage, the suspensor grew to its maximum length. The endosperm development of *Eleutherococcus senticosus* was of the Nuclear type. The rest period of primary endosperm nucleus was about 1 day long. When the number of endosperm free nuclei reached 200~300, the endosperm cellularized through free-growing-wall formation. The endosperm cells divided by typical mitosis and got filled with reserve food. But in a small number of seeds, there were some huge endosperm cells with a huge nucleus. The endothelium differentiated from the inner epidermis of integument when the number of endosperm free nuclei had increased to 32~64, and disintegrated when the embryo developed into the globular stage. After the disintegration of endothelium, the epidermal cells of endosperm differentiated into a secretory layer. From the globular embryo to heart-shaped embryo stage, disintegration of embryo and endosperm occurred in about 5% seeds. In the mature fruits, there were a large amount of shrivelled and insect-bitten seeds, and the pulmp seeds made up about 40% of the total. The pulmp seeds were mainly occupied by the endosperm, with a very small embryo. The nutrients of the embryo and endosperm at different stages of development are also discussed.

Key words *Eleutherococcus senticosus*; Embryo; Endosperm; Embryo development; Endosperm development; Endothelium; Reserve food; Nutrients

摘要 刺五加 *Eleutherococcus senticosus*(Rupr. et Maxim.) Maxim.的胚胎发生类型为茄型。其卵细胞受精后,合子经历15天左右的休眠期才进行第一次分裂。合子分裂通常发生在胚乳细胞化之后,经棒形胚、球形胚、至果实成熟时发育到心形胚。棒形胚后期至心形胚初期,胚柄最为发达。刺五加的胚乳发育类型为核型。其初生胚乳核的休眠期为1天左右。当胚乳游离核数目增加到200至300时,胚乳以自由生长细胞壁的方式细胞化,胚乳细胞以典型的有丝分裂方式进一步增殖,增加细胞数目。球形胚时期,胚乳细胞内开始贮藏营养物质。少数种子的胚乳里存在巨大细胞核的异型胚乳细胞。在胚乳游离

* 国家自然科学基金重大项目(39391500)和一般项目(39470130)资助课题。
** 通讯联系人 Author for correspondence.
1997-06-29 收稿,1997-10-03 收修改稿。

核为 32 至 64 个时，分化出珠被绒毡层；球形胚时期，珠被绒毡层解体。珠被绒毡层解体后，胚乳表层细胞分化为分泌层。球形胚至心形胚阶段，约有 5%的种子里，胚与胚乳组织发生弥散样降解。成熟果实中，含有大量的瘪粒种子和虫咬种子；饱满种子率为 40%左右。饱满种子中，胚乳组织占据种子体积的绝大部分，胚所占比率很小。讨论了不同发育时期胚和胚乳的营养供应。
关键词　刺五加；胚；胚乳；胚和胚乳发育；珠被绒毡层；贮藏物质；营养供应

刺五加 *Eleutherococcus senticosus*，作为一种传统的药用植物，其基础生物学研究工作逐渐被受到重视。本文在连续多年工作的基础上，重点报道其胚和胚乳发育的有关结果，以期为深入开展刺五加的生殖生物学研究提供资料。

1　材料和方法

本研究所用刺五加材料采自黑龙江省尚志市境内的东北林业大学帽儿山森林生态站(东经 127°30′～127°34′，北纬 45°20′～45°25′)。研究方法同刘林德等(1998a)的报道。

2　观察结果

2.1　胚的发育

卵细胞受精后，合子经历 15 天左右的休眠期。休眠期合子的形态发生明显变化：初期的合子，形态与卵细胞相似(图 1:1)；后来，其体积逐渐缩小，至 32 个胚乳游离核时期，合子体积约为卵细胞的 2/3 左右(图 1:2)，其珠孔端仍存留液泡，核周围的浓厚细胞质里充满淀粉粒，核膜外围有深染的颗粒。合子分裂前呈显著的袋状延长，细胞质浓厚，核增大，珠孔端仍保留液泡，核周围的淀粉粒明显，核膜外的深染颗粒消失，核内有一个大核仁(图版Ⅰ:1．图 1:3)。

合子分裂通常发生在胚乳细胞化之后。合子第一次分裂为横向分裂，形成顶细胞 ca 和基细胞 cb(图版Ⅰ:2～3．图 1:4)。二者各横向分裂一次形成线性排列的四细胞原胚(图版Ⅰ:4．图 1:5)。由顶细胞分裂而来的细胞形成胚体部分，由基细胞衍生而来的细胞将构成胚柄(图 1:6～11)。基细胞不参与胚体的建成，因而刺五加胚胎发生的类型为茄型。其原胚的早期发育见示意图(图 1)和图版Ⅰ:2～12.

传粉后 25～30 天，胚乳细胞化。随着胚乳细胞数量的增加，胚柄充分发育，棒形胚的胚体逐渐增大，围绕胚体的胚乳细胞呈现离散状态(图版Ⅰ:9～10)。

传粉后 30～40 天，胚体细胞继续分裂形成球形胚；胚柄细胞呈现退化迹象。此时，胚体周围离散的胚乳细胞已经解体(图版Ⅰ:11)。

传粉 50～60 天，果实基本成熟。胚发育至心形胚后期，胚体体积增大，两子叶原基明显伸长，胚柄退化(图版Ⅰ:12)。胚体周围的胚乳细胞解体，形成圆球形腔。胚细胞中贮存大量的蛋白质和脂类物质，未发现有贮存形式的多糖存在。

2.2　胚乳的发育

刺五加初生胚乳核的休眠期为 1 天左右(图版Ⅱ:1)，其分裂早于合子分裂。初生胚乳核及其后核的有丝分裂不伴随细胞壁的形成，成为胚乳游离核(图版Ⅱ:2～3，5)。胚乳游离核的前 7 次分裂均同步(图版Ⅱ:4)。当胚乳游离核数目增加到 200 至 300 时，核

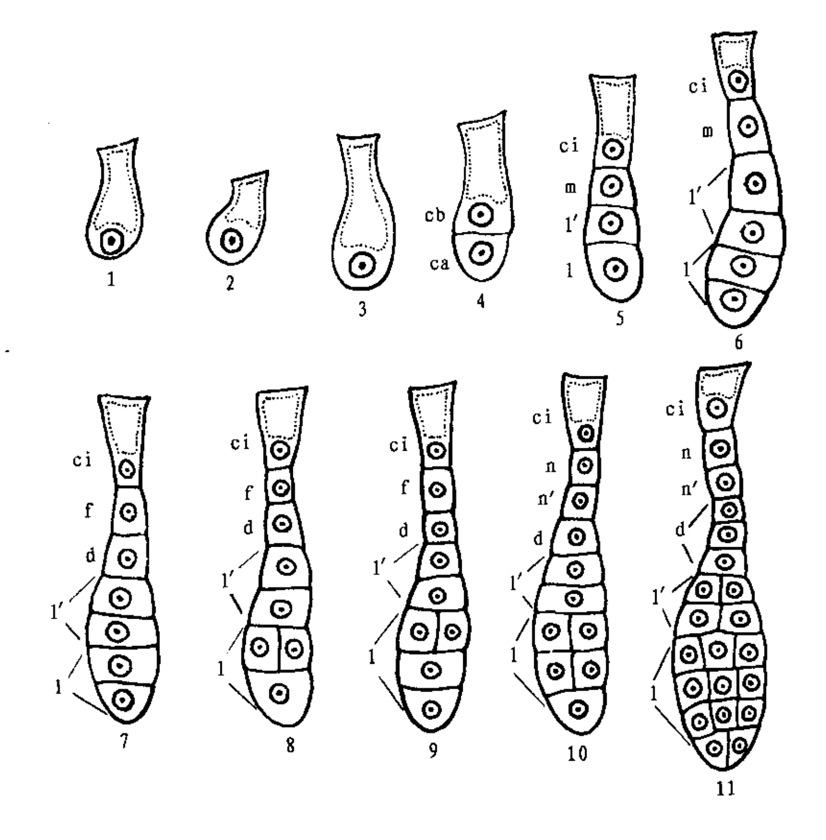


图1 刺五加原胚早期发育示意图(注解见正文)
Fig.1 The illustration of the early development of *Eleutherococcus senticosus* proembryo. (See explanation in the text)

之间以自由生长细胞壁的形式细胞化(图版Ⅱ:6～7),细胞化通常从胚囊的合点端向珠孔端、从周缘向中央渐次进行。刺五加的胚乳发育类型为核型。

刚形成的胚乳细胞体积较大,依典型的有丝分裂方式进行增殖(图版Ⅱ:8)。棒形胚期,胚乳增加细胞数量,扩大体积。球形胚期,胚乳扩大体积的速度渐缓,细胞呈多边形,细胞质浓厚并开始贮藏营养物质(图版Ⅱ:9)。心形胚期,胚乳细胞内贮藏大量蛋白质和脂类(图版Ⅱ:10),未见多糖颗粒。随着珠被绒毡层解体,胚乳表层细胞逐渐分化为分泌层,其内不贮藏营养物质。该分泌层细胞有吸收并转运来自孢子体的营养物质至胚乳内部细胞的作用。棒形胚后期至心形胚初期,靠近胚体的胚乳细胞呈离散状态并开始解体,至此,胚体的进一步发育将以周围胚乳细胞的降解物为营养来源。

胚乳细胞化之后,常可观察到一些含巨大细胞核的异型胚乳细胞,图版Ⅱ:13示正常胚乳细胞与异型胚乳细胞的对比。异型胚乳细胞的细胞核为圆球形、长纺锤形或变形虫形(图版Ⅱ:14～15),核仁巨大,一个至多个不等。这种异型胚乳细胞可行正常的有丝分裂,图版Ⅱ:16～17即为其分裂的中期和末期。未观察到其细胞核相互融合的现象。估计异型胚乳细胞是经核内多次DNA复制而形成的多倍体细胞,其细节有待进一步探讨。

球形胚至心形胚阶段,大约有5%的种子里,胚与胚乳组织发生弥散样解体(图版Ⅱ:12),这可能是种子后期空瘪而呈现纸质状的原因。种子成熟时,珠被细胞除表皮层外全

部解体,表皮细胞发育为种皮(图版Ⅱ:11)。

2.3 珠被绒毡层的发育

在合子期,即胚乳游离核为 32 至 64 个时,珠被的内表皮逐渐分化为珠被绒毡层。其细胞径向并平周延长,大部分具单核,个别具 2 核,其液泡小,细胞质浓厚,呈腺细胞形态。合子分裂前后,珠被绒毡层细胞平周延长,液泡化,细胞体积增大,相邻的珠被细胞开始解体。棒形胚时期,随着胚乳细胞数目急剧增加,珠被绒毡层被挤压,相邻的大部分珠被细胞继续被解体;球形胚以后,胚乳细胞内营养物质迅速积累,珠被绒毡层和大部分珠被细胞解体。心形胚时期,胚乳组织的外表层发育为分泌层,进而执行吸收并转运营养物质的功能,珠被的外表皮层特化为刺五加的种皮。珠被绒毡层作为胚乳外围的特定结构,起着为胚乳发育转送营养物质的作用。刺五加胚、胚乳与珠被绒毡层发育的进程如表 1 所示。

表 1　刺五加胚、胚乳及珠被绒毡层发育的进程表(1995 年次生林下雌株)
Table 1　Correlation between embryo, endosperm and endothelium development in *Eleutherococcus senticosus* (According to the material of female plants under secondary forest in 1995)

传粉后天数(日期) Ordinal days after pollination (Date)	子房长度 Length of ovary (mm)	胚 Embryo	胚乳 Endosperm	珠被绒毡层 Endothelium
传粉后 4 天(7 月 24 日) 4th day (Jul, 24th)	3.5～4.0	卵 egg	次生核 secondary nucleus	尚未分化 undifferentiated
传粉后 6 天(7 月 26 日) 6th day (Jul, 26th)	3.5～4.5	精卵融合 the fusion of sperm and egg	初生胚乳核,2-,4-,8-游离核 primary endosperm nucleus, 2-,4-, and 8-free nuclei	尚未分化 undifferentiated
传粉后 10 天(7 月 30 日) 10th day (Jul, 30th)	4.0～5.0	合子 zygote	4-,8-,16-游离核 4-,8-, and 16- free nuclei	尚未分化 undifferentiated
传粉后 13 天(8 月 2 日) 13th day (Aug, 2nd)	4.0～5.0	合子 zygote	4-,8-,16-,32-,64-游离核 4-,8-,16-,32-,64-free nuclei	分化 differentiated
传粉后 17 天(8 月 6 日) 17th day (Aug, 6th)	4.0～5.0	合子 zygote	32-,64-,128-,250-游离核 32-,64-,128-,250-free nuclei	发育 developed
传粉后 21 天(8 月 10 日) 21st day (Aug, 10th)	4.0～5.5	2 细胞原胚 2-celled embryo	胚乳细胞化 endosperm cellulated	发育 developed
传粉后 29 天(8 月 18 日) 29th day (Aug, 18th)	5.0～6.0	棒形胚 club-shaped embryo	胚乳贮藏营养物质 endosperm store reserve	挤压 pressed
传粉后 35 天(8 月 24 日) 35th day (Aug, 24th)	6.0～6.5	球形胚 globular embryo	胚体周围的胚乳细胞解体 endosperm cells around the embryo proper disintegrated	解体 disintegrated
传粉后 45 天(9 月 3 日) 45th day (Sep, 3rd)	6.0～6.5	心形胚初期 early heart-shaped embryo	胚体周围的胚乳细胞解体 endosperm cells around the embryo proper disintegrated	解体 disintegrated
传粉后 55 天(9 月 13 日) 55th day (Sep, 13rd)	6.0～6.5	心形胚后期 later heart-shaped embryo	胚体周围的胚乳细胞解体 endosperm cells around the embryo proper disintegrated	解体 disintegrated

2.4 成熟果实中胚、胚乳及种子的状态

果实成熟时,胚只发育到心形期;胚乳细胞内充满丰富的营养物质(图版Ⅱ:12),主要是蛋白质和脂类物质,胚乳细胞核难以被观察到。胚周围的胚乳细胞降解形成囊腔,其内充满胚乳水解物,呈 PAS 正反应,证明腔内存在大量呈溶解状态的多糖性物质。成熟种

子里,胚乳组织占据种子体积的绝大部分,胚所占比率较小。

另外,在成熟果实中,含有大量的瘪粒种子、不饱满种子和虫咬种子。如刘林德等(1998a)报道,1995年,次生林内雌株的饱满种子率为36.4%,伐后迹地雌株的饱满种子率为68.6%,次生林缘雌株的饱满种子率为57.0%。而1994年相应生境的饱满种子率分别为23.1%,4.16% 和 42.8% (刘林德等,1997b)。刺五加瘪粒及不饱满种子产生的原因不外乎下列几个方面:(A) 雌配子体发育过程中有一定比率的不育和败育现象(刘林德等,1998a);(B)30%~50%的成熟胚囊未能受精而退化(刘林德等,1998b);(C)在球形胚至心形胚阶段,大约有5%的种子里胚与胚乳组织提前解体,从而使这些种子呈纸质状。

3 讨 论

3.1 刺五加胚胎发生和胚乳发育的类型

五加科植物的胚胎发生多属柳叶菜型或藜型(Johri *et al*, 1992; Johri, 1984)。而刺五加的胚胎发生属茄型,这一胚胎发生类型在五加科是首次被报道。

刺五加具核型胚乳,这与五加科已被研究过的所有植物都相同。只是胚乳游离核在数目达200~300个时才细胞化,这与五加科已被研究过的植物如 *Tieghemopanax sambucifolius* 相比是较晚的。其胚乳游离核以自由生长细胞壁的形式细胞化,这种情况与人参相同(连永权,申家恒,1989),而与 *Tieghemopanax sambucifolius* 的不同(Mohana Rao, 1972)。

3.2 刺五加胚与胚乳发育过程中营养物质的来源

胚与胚乳发育过程中营养物质的来源问题一直颇受重视(席湘媛,叶宝兴,1994; 席湘媛,1993; 牛佳田,申家恒,1991)。在此,我们试图对刺五加胚与胚乳发育过程中营养物质的供应及其与相应结构的关系做一讨论。

3.2.1 胚的营养来源

胚发育的不同阶段,营养物质的来源有所不同。成熟胚囊时期,卵细胞内有淀粉粒贮藏。卵细胞受精后,围绕细胞核的淀粉粒有所增加。四细胞原胚之前,胚细胞内均可看到淀粉粒。其后,原胚细胞内淀粉粒消失。因此,可以推测,在胚柄形成之前,原胚发育所需要的营养主要来源于合子中存在的淀粉类物质。

胚柄是刺五加原胚阶段最具特点的结构。从棒形胚发育至球形胚一直伴随着胚柄延长,同时胚体被推入胚乳组织中,为进一步发育做好空间上的准备。棒形胚后期至球形胚初期,胚柄最为发达,胚体通过它与孢子体相连,并吸收孢子体输送来的营养物质。球形胚中期,胚柄开始退化,围绕着球形胚的胚乳细胞开始离散并逐渐解体。球形胚后期,整个球形胚浸在充满降解物的腔中。PAS反应表明,腔内充满多糖类物质。此后,原胚进一步发育,所需要的营养物质完全来自逐渐被降解的胚乳细胞。这种情况与人参类似(连永权,申家恒,1989)。

3.2.2 胚乳的营养来源

刺五加的反足细胞在雌配子体成熟前退化,珠心细胞在胚囊成熟之前解体,二者均不能为胚乳发育转输营养物质。与大多数被子植物的胚乳发育相同,刺五加的初生胚乳核

先于合子分裂(胡适宜,1982)。随着初生胚乳核的分裂,紧紧包围着胚囊的珠被内表皮层分化为珠被绒毡层,此时,珠被细胞内多糖物质极为丰富。珠被绒毡层将珠被内的营养物质转运至胚囊里。球形胚时期,珠被绒毡层解体以后,胚乳表层细胞逐渐发育为腺型细胞的分泌层,可能有助于其获得珠被细胞降解所释放的营养及孢子体输送来的营养,此时,胚乳组织大量积累蛋白质和脂类。

刺五加珠被绒毡层的发育有自己的特点:在精卵融合后才分化形成,在棒形胚时期被挤压,在球形胚时期解体。估计此结构的功能是为原胚期的胚乳核增殖以及胚乳细胞的发育转输营养。这与人参,竹节参,*Tieghemopanax sambucifolius* 中的情况明显不同(魏正元,尤瑞麟,1993;连永权,申家恒,1989;Mohana Rao,1972);但存在时间的长短与洋常春藤 *Hedera helix* 中的情况相似(Johri *et al*,1992)。

3.3 成熟果实中胚、胚乳及种子的状态

果实成熟时,饱满种子内的胚只发育到心形期,其胚乳细胞内充满丰富的营养物质,主要为蛋白质和脂类。胚周围的胚乳细胞被降解形成空腔,其内充满胚乳降解物,呈 PAS 正反应。成熟种子里,胚乳组织占绝对优势,胚所占比率较小。这种情况与人参类似(连永权,申家恒,1989)。这预示着刺五加的种子也需要较长时间的后熟过程才能萌发。这种现象可能是刺五加长期适应阴生环境的结果。有关种子后熟的研究将另文报道。

另外,不同年份、不同生境条件下,刺五加开花数量、座果数量、传粉昆虫数量和饱满种子率、瘪粒率等均不尽相同。刺五加瘪粒产生的原因除雌配子体发育过程中有一定比率的不育和败育、传粉不足导致 31%～52%的成熟胚囊未经受精而退化之外,在球形胚至心形胚阶段,大约有 5%的种子中胚与胚乳组织提前解体,从而使这些种子呈纸质状。

参 考 文 献

牛佳田,申家恒,1991.党参胚胎学研究.植物学报,33(6):421～428

刘林德,王仲礼,田国伟,申家恒,1997b.刺五加的有性生殖与营养繁殖.植物分类学报,35(1):7～13

刘林德,王仲礼,田国伟,申家恒,1998a.刺五加的大、小孢子发生和雌、雄配子体发育的观察.植物分类学报,36(4):289～297

刘林德,王仲礼,田国伟,申家恒,1998b.刺五加开花后雌蕊的发育状态与受精作用.植物分类学报,36(2):111～118

连永权,申家恒,1989.人参胚胎学研究.植物学报,31(9):653～660

胡适宜,1982.被子植物胚胎学.北京:人民教育出版社.149～194

席湘媛,1993.菘兰胚和胚乳的发育及营养物质的组织化学.植物学报,35(1):35～43

席湘媛,叶宝兴,1994.薏苡胚发育及贮藏营养物质积累的研究.植物学报,36(8):573～580

魏正元,尤瑞麟,1993.竹节参雌配子体发育的研究.武汉植物学研究,11(2):97～103

Mohana Rao P R, 1972. Morphology and embryology of *Tieghemopanax sambucifolius* with comments on the affinities of the family Araliaceae. Phytomorphology, 22:75～87

Johri B M, 1984. Embryology of Angiosperms. Berlin: Springer-Verlag. 319～443

Johri B M, Ambegaokar K B, Srivastava P S, 1992. Comparative Embryology of Angiosperms. Berlin: Springer-Verlag. 606～607

图版说明 Explanation of plates

图版 I　1.合子分裂前期(×800);2.合子分裂后期(×800);3.二细胞原胚(×800);4.四细胞原胚(×800);5.棒形胚初期(×350);6～8.棒形胚期(×350);9.棒形胚期,胚体与胚柄分化(×350);10.棒形胚后期,胚体周围的胚乳细胞呈离散状态(×350);11.球形胚期,胚柄开始退化,胚体周围的胚乳

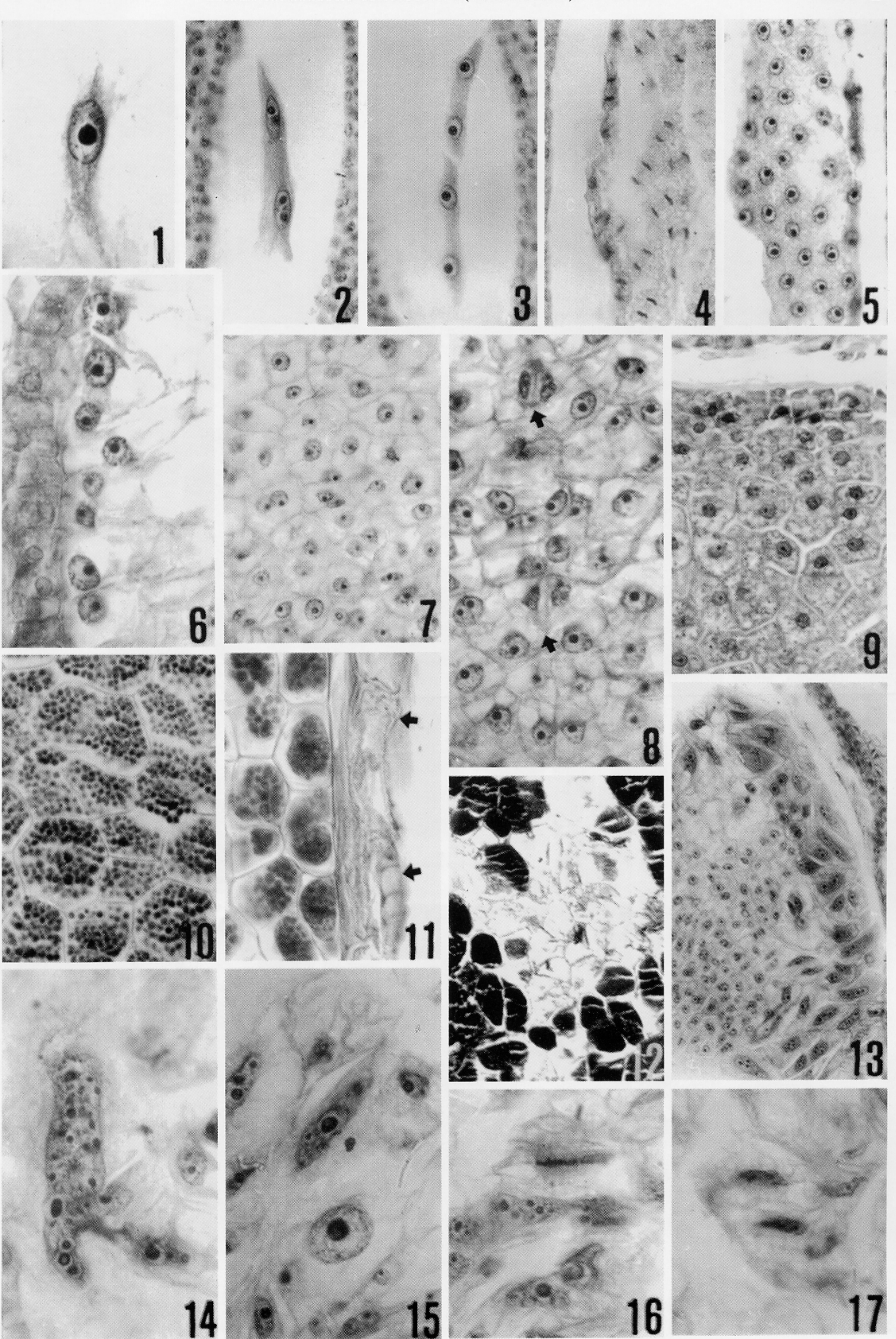
细胞降解(×200)；12. 心形胚后期,胚柄退化,胚体周围胚乳细胞降解(×150).

图版Ⅱ 1. 初生胚乳核(×500)；2. 二个胚乳游离核时期(×500)；3. 四个胚乳游离核时期(×500)；4. 胚乳游离核的同步分裂(×500)；5. 胚乳游离核(×500)；6. 胚乳游离核细胞化(×700)；7. 胚乳细胞(×500)；8. 胚乳细胞以有丝分裂方式增加胚乳细胞数目(×700)；9. 球形胚期,胚乳细胞开始贮藏营养物质(×500)；10. 心形胚时期,胚乳细胞内贮藏蛋白质颗粒(×125)；11. 心形胚期,胚乳组织外层形成分泌层,珠被细胞全部解体,珠被外表皮将发育成为种皮(×700)；12. 胚乳细胞解体(×125)；13. 正常胚乳细胞与细胞核巨大的异型胚乳细胞(×125)；14. 异型胚乳细胞,细胞核呈变形虫样(×400)；15. 异型胚乳细胞,细胞核巨大、圆球形或长纺锤形(×400)；16. 异型胚乳细胞通过有丝分裂方式增殖,示有丝分裂中期(×400)；17. 异型胚乳细胞通过有丝分裂方式增殖,示有丝分裂末期(×400)。

Plate Ⅰ 1. Prophase of mitosis in zygote(×800); 2. Anaphase of mitosis in zygote(×800); 3. 2-celled proembryo(×800); 4. 4-celled proembryo(×800); 5. Early club-shaped embryo(×350); 6～8. Club-shaped embryo(×350); 9. Club-shaped embryo, embryo proper and suspensor ifferentiating(×350); 10. Later club-shaped embryo, showing endosperm cells around the embryo proper getting to dispersed(×350); 11. Globular embryo, showing suspensor starting to degenerate and endosperm cells around the embryo proper begining to disintegrate(×200); 12. Later heart-shaped embryo, showing the suspensor degenerated and endosperm cells around the embryo proper disintegrate(×150).

Plate Ⅱ 1. Primary endosperm nucleus(×500); 2. Two endosperm free nuclei(×500); 3. Four endosperm free nuclei(×500); 4. Synchronous division of endosperm free nuclei(×500); 5. Endosperm free nuclei(×500); 6. Cellularization of endosperm free nuclei(×700); 7. Endosperm cells(×500); 8. Number of endosperm cells increased by mitosis(×700); 9. Globular embryo, showing endosperm cells begining to store reserve(×500); 10. At the stage of heart-shaped embryo, endosperm cells stored protein grains(×125); 11. At the stage of heart-shaped embryo, the epidermis of endosperm became secretory layer, and the integument cells degenerated but the outer epidermal cells of the integument will developed into seed coat(×700); 12. Disintegration of endosperm cells(×125); 13. Normal endosperm cell, and abnormal huge endosperm cell with huge nucleus(×125); 14. Huge endosperm cell with amoeba-like nucleus(×400); 15. Abnormal huge endosperm cells, with their huge nuclei round or like a long spindle(×400); 16. The number of abnormal huge endosperm cells increased by mitosis, note the metaphase of mitosis(×400); 17. The anaphase of mitosis in abnormal huge endosperm cells(×400).

1 2 3 4 5
6 7 8 9
10 11 12


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17